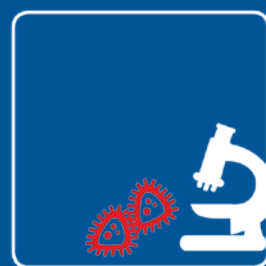
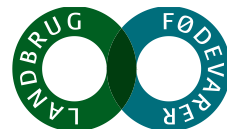


Kan brug af mælkephospholipider som emulgator i modermælks-erstatninger påvirke tarmens mikrobiota i en retning som forebygger fedme og metabole sygdomme?





Final report **for collaborative projects funded via** **the Danish Dairy Research Foundation (DDRF)**

[This report is prepared to DDRF. If the project is partly financed by public financial means, which also needs a final report it should be individually agreed with the DDRF secretary if the final report to this public contributor may partly or in total substitute the DDRF final report.]

[Support text in [square brackets] should be deleted when filling out the template]

1. Title of the project

"Kan brug af mælkephospholipider som emulgator i modermælkserstatninger påvirke tarmens mikrobiota i en retning som forebygger fedme og metabole sygdomme?"

"Will the use of milk phospholipids as emulsifier in infant formula affect the gut microbiota in a direction that prevents obesity and metabolic diseases?"

2. Project manager

Lars I Hellgren
DTU Systembiologi, Danmarks Tekniske Universitet
Bygning 224
2800 Kgs. Lyngby
e-mail: lih@bio.dtu.dk
Tel: +4520762759

3. Other project staff

[Tine Rask Licht, DTU Food, Danmarks Tekniske Universitet, (trl@food.dtu.dk)

Rikke Gulddammer Nejrup, DTU Systembiologi, Danmarks Tekniske Universitet
(rmbg@bio.dtu.dk)

4. Sources of funding

MFF og DTU

5. Project period

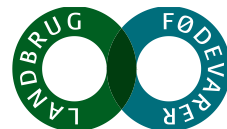
Project period with DDRF funding: [Jan 12- Dec,14

Total project period, if sub-project within a larger project:

Not relevant.

6. Project summary

The aim of the project was 1.) To determine whether use of milk phospholipids instead of soy lecithin as emulsifier in infant formulas could have a positive impact on the establishment of the gut microbiota 2.) If the fatty acid composition in milk, in particular the high concentration of medium-chained fatty acids (MCFA),



might have a specific impact on the composition of the newly established gut microbiota in infants. 3. To determine whether an altered microbiota induced by the phospholipid or fatty acid compositions affects obesity development and metabolic response to a high fat diet. We have studied this in anaerobic culture of a microbial community isolated from infant feces and in germ free mice. Our results show that degradation products that are formed during digestion of milk fat (i.e MCFA) have specific effects on the infant fecal microbial community. Increased concentration of MCFA reduces the number of *Protobacteria* and increases the number of lactic acid producing bacteria, hereunder both *Bifidobacterium* and *Lactobacillus*. There was in particular a strong effect on *Bifidobacterium*. Based on these results, we suggest that the high concentration of MCFA in milk not only represents a source of rapid energy, but also have an important role in skewing the establishment of the microbiota in an advantageous direction (fewer *Proteobacteria* and more lactic acid producing bacteria) ¹.

We have also performed a study in which germ-free mice was inoculated with a mix of the infant microbiotas that was used in the *in vitro* study. The mice were given emulsions made on either coconut-oil (rich in MCFA) or rapeseed oil (control oil), emulsified in either milk phospholipids or soy lecithin as their sole source of fat during 14 days from inoculation with the microbiota.

Both the type of phospholipids and the type of oil in the emulsions affected the composition of the microbiota that was established in the mice. This indicates that also the way fat is emulsified in infant formulas can modify the composition of the microbiota that colonizes the gut of newborn babies.

To determine if the observed changes in the microbiota affected obesity development and the metabolic response to a high fat diet, a group of mice that had been inoculated with the infant microbiota and given the emulsions as described above, was given a high fat or a normal low fat mice diet (control diet) for 12 weeks,

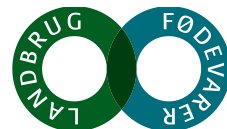
There were no differences in obesity development or metabolic response to the high fat diet, but the effects on the composition of the microbiota induced by the different phospholipid preparations still remained after 12 weeks in the mice given the control diet.

Conclusion

The choice of phospholipid preparation (milk phospholipids or soy lecithin) used to emulsify fat in infant formula may lead to lasting effects on the composition of the gut microbiota, although dramatic dietary alterations after establishment have larger effects. The difference in microbiota composition does however not affect the metabolic response to a high fat diet.

6. Project summary (dansk)

[Projektets formål var 1.) at afdække om der kan opnås gunstige effekter på etablering af tarmmikrobiotaet ved at bruge mælkephospholipider i stedet for soja lecithin som emulgator i modersmælkerstatning 2.) Om lipidsammensætningen i mælk, især indholdet af mellemlange fedtsyrer, kan have særlig betydning for sammensætningen af det nyetablerede tarmmikrobiotaet i spædbørn. 3.) Om eventuelle forskelle forårsaget af phospholipid- eller fedtsyresammensætning påvirker fedmeudvikling eller det metaboliske respons på indtag af en høj fedt kost i 12 uger.



Dette er blevet undersøgt i anaerob kultur af et mikrobielt samfund isoleret fra spædbørns faeces, samt ved studier i kimfri mus. Resultaterne viser at nedbrydningsprodukter som dannes ved fordøjelse af mælkefedt i tarmen (forskellige frie fedtsyrer blandet med 2-monoacylglycerol i ration 2:1, med eller uden tilsætning sphingosin) påvirker tilvæksten af bakterier i bakteriesamfund isolerede fra spædbørnsfaeces. Resultaterne viser, at især de mellemlange fedtsyrer som karakteriserer mælkefedt, havde stor indvirkning på bakteriesammensætningen. Når koncentrationen mellemlange fedtsyrer øgedes i dyrkningsmediet, skete der et skift der førte til færre *Protobacteria* og flere mælkesyreproducerende bakterier, herunder både *Bifidobacterium* og *Lactobacillus*. Effekten på *Bifidobacterium* var særligt markant. Baseret på disse resultater, foreslår vi derfor at den høje koncentration mellemlange fedtsyrer som findes i mælk, udover at være en hurtigt mobiliseret energikilde, også spiller en rolle i at modificere mikrobiotat hos det nyfødte børn i en gunstig retning (lavere antal *Proteobacteria* og flere mælkesyre producerende bakterier) ¹.

Vi har også lavet *in vivo* forsøg, i hvilke kimfri mus blev inokulerede med en blanding af samme spædbørns mikrobiota som vi brugte i *in vitro* studiet. Efter at musene havde modtaget mikrobiotaet, blev de i fjorten dage givet emulsioner baserede enten på kokosolie (rig på mellemlange fedtsyrer) eller rapsolie (kontrololie med langkædede fedtsyrer) emulgeret i mælkephospholipider eller sojalecithin som eneste fedtkilde. Resultaterne viser at både phospholipidtype og fedtsyresammensætning påvirker sammensætningen af det tarmmikrobiota som etablerer sig i musene. Dette indikerer at måden som fedt emulgeres i modermælkserstatninger kan have betydning for hvilket bakteriesamfund som koloniserer spædbørns tarm, samt at både den særlige phospholipid og fedtsyresammensætningen i mælk, har specifik betydning for etablering af tarm-mikrobiotat.

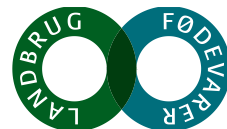
Ved at giv musene almindelig muse-pille (kontrol) eller en høj-fedt kost i 12 uger efter emulsionerne har vi vist at forskellene i mikrobiota, forårsaget af de forskellige emulsioner ikke påvirkede fedmeudvikling, glukose-tolerance eller insulinfølsomhed.

I musene som havde fået kontrolkosten, men ikke dem som havde fået høj fedt kost, var det dogstadigt forskelle i mikrobiotat mellem mus som havde fået emulsioner emulgeret i mælkephospholipider eller sojalecithin, 12 uger efter behandling med emulsionerne.

Konklusion: Brug af mælkephospholipider eller sojalecithin som emulgator til fedt under etablering af tarmmikrobiotaet fører til vedværende forskelle i tarmmikrobiotaet, under forudsætning at der ikke sker andre drastiske forskelle i kosten som fører til et forandret mikrobiota (høj fedtkosten i vores studie). Disse forandringer i mikrobiotat påvirker dog ikke effekten af indtag af høj fedt kost på fedmeudvikling, eller metabol funktion.

7. Project aim

I dette projekt vil vi afdække om man ved at erstatte soja-lecithin baserede emulgatorer med mælkephospholipider (MPL) f eks i modermælkserstatninger, kan ændre sammensætningen af tarmens mikrobiota på en måde som kan fremme sundheden senere i livet. Vi vil også undersøge om de mellemlange fedtsyrer, som er karakteristiske for mælkefedt samt sphingosin, som dannes ved fordøjelse af sphingomyelin som indgår i mælkephospholipider, har særlige effekter på sammensætningen af tarmmikrobiotaet.



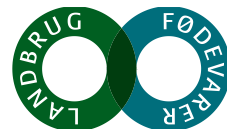
8. Background for the project

Projektet er baseret på tidligere forsøg fra vores gruppe, som viser at emulgering af fedt i mælkephospholipider (MPL) i stedet for emulgering i sojalecithin, som normalt bruges i modersmælkserstatninger, fører til en langsommere hydrolyse af fedtet i tarmen ved hjælp af pancreas lipasen, men en hurtigere fordøjelse ved hjælp af gastrisk lipase. Sammen fører dette til, at en øget mængde fedt når colon når det er emulgeret i MPL². Således vil valget af emulgator i modermælkserstatninger kunne påvirke hvor høj koncentration af fedtfordøjelses produkter, så som frie fedtsyrer og 2-monoacylglycerol som tarmmikrobiota bliver eksponeret for. Det er også kendt at disse molekyltyper har selektivt baktericide virkninger, forskelle i fedtsyreeksponeering kan derfor ventes forandre konkurrencesituation mellem forskellige bakteriearter i mikrobiota. I et pilotstudie med kimfri mus, har vi også tidligere fået indikationer på at indtag af fedt emulgeret i MPL eller sojalecithin påvirker etableringen af tarmmikrobiota. I forsøget efterlignede vi koloniseringen som sker i tarmen efter fødsel, ved at tage kimfrie mus ud af den sterile omgivelse og placerede dem i bure som indhold faeces fra en almindelig mus, samtidigt som de fik en emulsion baseret på sojalecithin eller MPL i tre uger. Resultatet viste at mængden af bakterier fra phylumet *Firmicutes* falder når musene indtager den MPL-baserede emulsion uden at mængden af bakterier fra *Bacteroidetes* er påvirket. Da en høj niveau af *Firmicutes* i forhold til *Bacteroidetes* er blevet associeret til udvikling af fedme, tyder disse resultat på at risikoen at udvikle fedme senere i livet evt. kan reduceres ved at bruge MPL i stedet for sojalecithin i modermælkserstatninger.

9. Sub-activities in the entire project period

Opdateret grundet forsinkelser.

	1Q-12	2Q-12	3Q-12	4Q-12	1Q-13	2Q-13	3Q-13	4Q-13	1Q-14	2Q-14	3Q-14	4Q-14
Literature studies												
Effects of lipid metabolites on growth and composition of the fecal microbioata from human infants												
Impact on establishment of the intestinal microbioata when using MPL rather than soy lecithin as emulgator of dietary fat.												
Long time effects of MPL induced effects on establishment of the gut-microbioata in germ-free mice												
Preparation of MS												
Writing thesis												



1. Påvirker eksponering for fedtfordøjelses-produkter vækst of sammensætning af tarmmikrobioata *in vitro*.

Levende tarmmikrobioata isoleres fra spædbørn faeces og dyrkes ved anaerob fermentering i et medium med eller uden fri fedtsyrer, 2-monoacylglycerol og sphingosin, som er produkter fra fedtfordøjelsen.. Disse lipid-fordøjelses produkter er karakteristiske for fordøjelse af mælkefedt. Bakteriesamfundet dyrkes anaerobt i 24h i medie ± forskellige koncentrationer af lipid-metabolitterne. Ved tiden 0 samt efter 24h udtages prøver for DNA-isolering og effekten af lipid-metabolitterne på sammensætning af bakteriesamfundet kvantificeres vha qPCR og sekventering af DNA for 16SrRNA. Koncentration af kortkædede fedtsyrer analyseres i fermenteringsvæsken, som et mål på bakteriesamfundets aktivitet.

Outcome: Ny viden om fedtsyrens og andre lipid-metabolitters indvirkning på sammensætningen af spædbørns tarm-mikrobioata som indikerer hvilke forskelle vi kan forvente i *in vivo* studierne, samt grundlæggende viden om hvordan lipid-fordøjelses produkter påvirker bakteriesamfundets udvikling.

2. Påvirker brug af MPL i stedet for sojalecithin som emulgator etablering af tarmmikrobioataet i kimfri mus.

I dette studie bruges en model for etablering af tarmmikrobioataet efter fødslen, som vi har udviklet i et tidligere studie Kimfri mus tages ud fra det sterile miljø, hvor de inokuleres med et standardiseret humant spædbørnsmikrobioata. Det humane mikrobioata er valgt, da vi vil sikre os at inokulatet indeholder *Lactobacillus* samt *Bifidobacterium*. Musene bliver fodret med en fedtfrikost, og får fedtstof som en emulsion i drikkevandet. Emulsion består af triglycerider (hovedsagligt cocosolie (mellemlange fedtsyrer) eller rapsolie (langkædede fedtsyrer)). Der samles afføring for analyse af mikrobiota efter 5 og 10 dage. Efter 14 dage aflives musen hvorefter colon- og cecumindhold udtages for analyse af bakteriesammensætning, indhold af kortkædede fedtsyrer og andre lipider. Det er vist, at de kortkædede fedtsyrerne kan regulere frigivelsen af hormoner som regulerer appetitten og forbedre glucosehomeostasi (f. eks. GLP-1) fra tarmen, ved at aktivere GPR43 receptoren. Hvis der er forskelle i mængde og sammensætning af de kort-kædede fedtsyrer, som peger i retning af forskelle i aktivering af GPR43, og der er forskelle i fedmeudvikling som tyder på en appetitregulerende virkning, vil vi også analysere koncentrationen aktiv GLP-1 i plasma.

Analyse af mikrobioatasammensætning bliver gennemført ved Ion-Torrent sekventering af 16S DNA. Denne metode kan multiplexes, så at vi kan analysere op til 78 prøver på en chip, og stadig give information om sammensætning på gen-niveau.

Outcome: Ny viden om betydningen af lipidemulgering og lipideksponering i tarmen, for etablering af tarmmikrobioataet, samt derved produktion af potentielle mediatorer af mikrobioatets effekt på værtens fysiologi.

3. Vil brug af MPL som emulgator under etablering af tarmmikrobioataet give langtidseffekter på vægtøgning, metabol funktion samt lever og fedtvævsinflammation.

Vi vil undersøge om effekterne på tarmmikrobioataet som induceres af MPL-emulgeret fedt, fører til langtidseffekter på vægtøgning og metabol funktion.

Modellen med kimfrimus beskrevet WP 2. vil blive brugt for at give dyrene fedt (cocosolie eller rapsolie) emulgeret med MPL eller sojalecithin under etablering af tarmmikrobioataet. Behandlingen sker i 14 dage, hvorefter 10 mus fra hver gruppe overføres enten til en fiber-rig chow diet eller en obesogen kost (høj fedt). Dyrene får denne kost i ti uger, hvor de vejes hver uge, faeces indsamles for analyse af SCFA og mikrobioata efter 3 og 10 uger. Ved disse tidspunkter analyseres



også faste glukose og insulin, samt glukose-tolerance ved en oral glucose-tolerance test. Ved aflivning vejes alle fedtdepoter og organer.

Om data fra analyse af insulin, glucose-tolerance eller fedmeudvikling indikerer at behandlingen med de forskellige emulgatorer fører til forskelle i metabol funktion, vil vi efter 10 uger også analysere aktiv GLP-1 i plasma, inflammatorisk status i lever og fedtvæv (analyse af antal makrofager ved immunohistokemi samt balance mellem makrofager med en inflammatorisk eller anti-inflammatorisk phenotype med FACS)

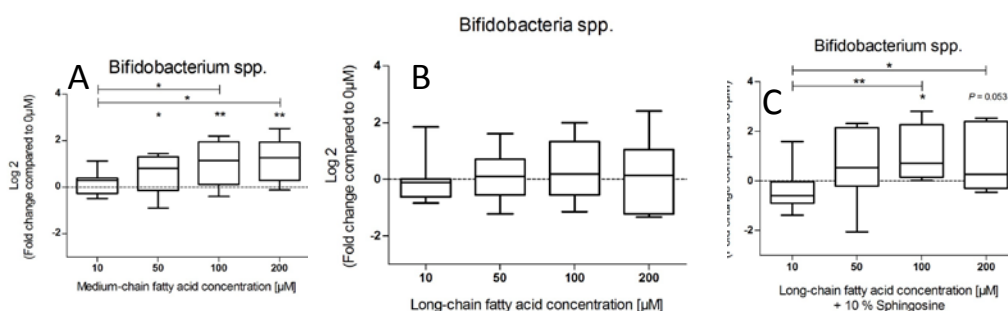
Om der ses forskelle i fedmeudvikling eller metabol funtion vil også Indhold og sammensætning af fedt I leveren blive analyseret

Outcome: WP 3 vil vise om de forskelle I tarmmikrobioataet som vi har set indikationer på I vores pilotstudie (øget *firmicutes*) er vedværende, samt om disse forandringer forårsager længerevarende forandringer energiekstraktion fra kosten, vægtøgning, insulinfølsomhed, udvikling af sub-klinisk information og aflejring af lipider i leveren.

10. Project results

WP 1

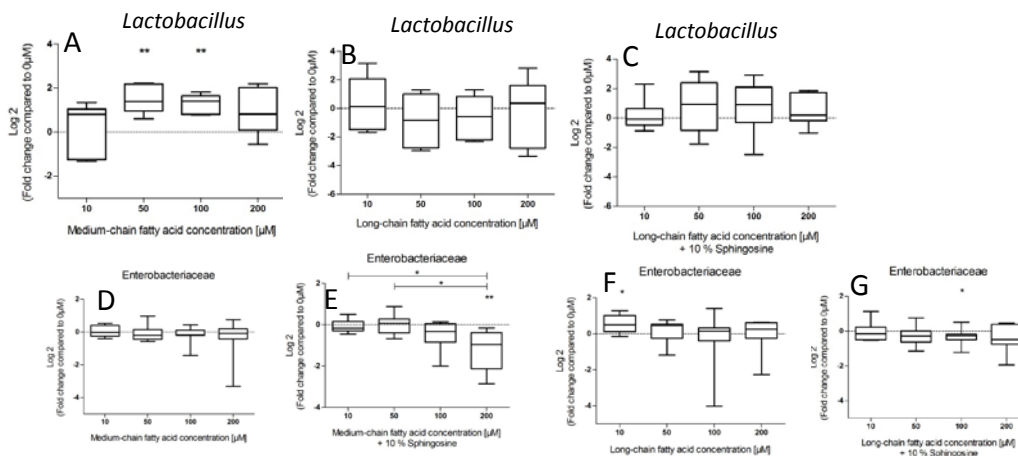
WP 1 blev udført som planlagt og beskrevet ovenfor. Som fremgår af figur 1 A og B , fremmer mellemlange, men ikke langkædede fedtsyrer væksten af Bifidobakterier (figur 1) samt *Lactobacillus* (figur 2). Når dyrkningsmediet udover de langkædede fedtsyrer også indhold sphingosin, som dannes ved fordøjelse af mælkephospholipidet sphingomyelin, stimulerede dog også de lang-kædede fedtsyrer tilvæksten af *Bifidobakterier* Fig. 1C), men ikke *Lactobacillus* (figur 2C)



Figur 1. Effekten af forskellige koncentrationer mellemlange (A) og langkædede (B) fedtsyrer på mængden af *bifidobakterier* i bakteriesamfundet. C. Effekten af sphingosin sammen med langkædede fedtsyrer, angivet som "fold-change" sammenlignet med medier uden fedtsyrer. Boksen angiver 25-75 percentilen, whiskers, 5 ti 95 percentilen. Stregen i boksen angiver medianværdien. N=9. * p<0.05, ** p<0.001

f

I mens tilsætningen af sphingosin til de langkædede fedtsyrer fremmede tilvæksten af de gusslige *Bifidobacterium o*, hæmmedes tilvæksten af de Gram negative bakterier som tilhører *Enterobacteriaceae*, som menes have en ugunstig virkning (Fig 2D-G).



Figur 2. Effekten af forskellige koncentrationer mellemlange (A) og langkædede (B) fedtsyrer på mængden af *Lactobacillus* i bakteriesamfundet. C) Effekten af sphingosin sammen med langkædede fedtsyrer på *Lactobacillus*. D-G) Effekten af lipidhydrolyseprodukter på mængden *Enterobacteriaceae*.

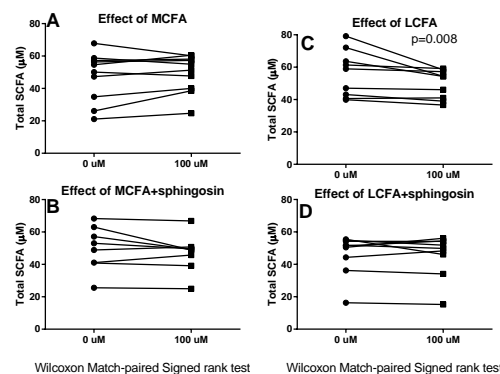
På trods af den markante effekt på sammensætningen af det mikrobielle samfund ved tilsætning af MCF, forårsagede ikke MCF nogen forskel i mængden eller sammensætningen af de producerede kort-kædede fedtsyrer (figur 3). Inkubering sammen med langkædede fedtsyrer førte dog til et signifikant fald i den totale koncentration af kortkædede fedtsyrer (figur 3C).

Konklusion WP1

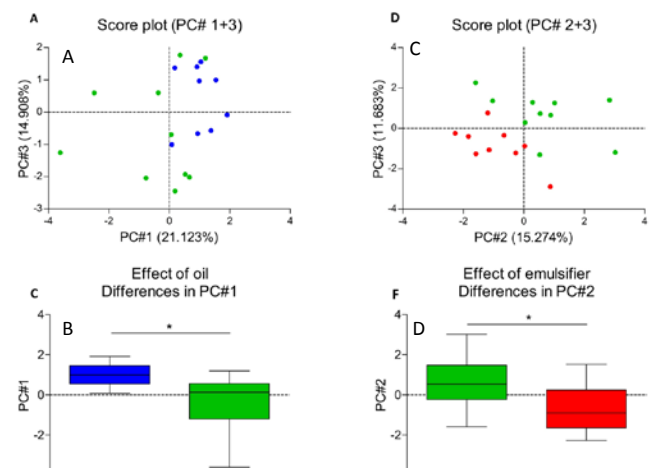
Lipid fordøjelsesprodukter som indeholder mellem-lange fedtsyrer fremmer tilvæksten af *Bifidobacterium* og *Lactobacillus*. Fordøjelsesproduktet fra fordøjelse af sphingomyelin, sphingosin, fremmer tilvæksten af *Bifidobacterium* og hæmmer *enterobacteriaceae*

Resultater WP 2

WP 2 er udført som planlagt. Resultaterne viser at både phospholipid (figur 3C & D)- og fedtsyresammensætning (figur 3A & B) i emulsionerne musene har fået 14 dage efter inokulering med et blandet spædbørns mikrobiota påvirker sammensætningen af mikrobiotaet i cecum. De mellemlange fedtsyrer i kokosolie fremmer fremforalt *Bacteroidaceae* og *clostridiaceae* (ikke vist). Emulgering i MPL fremmer *Clostridiaceae*, *Porphyromonadaceae*, og mindsker forekomsten af *Lachnospiraceae* og *Coriobacteriaceae* (ikke

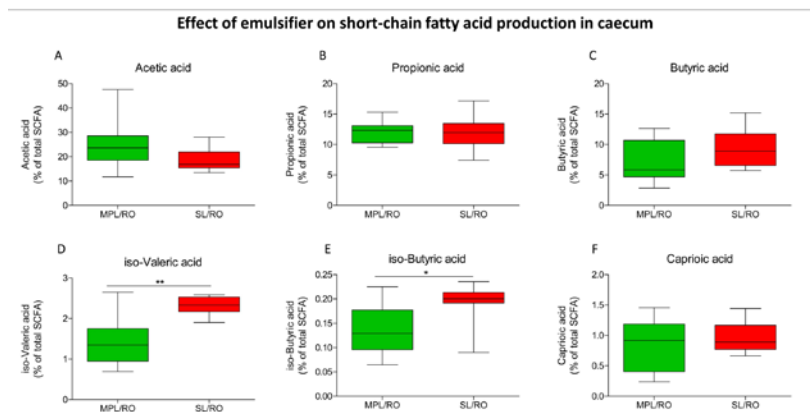


Figur 3. Koncentration kortkædede fedtsyrer i inkuberingsmediet efter 24 timers inkubering med (100 μM) eller uden (0 μM) den angivne fedtsyre. Hver linje viser koncentrationen efter inkubering med mikrobiota isoleret fra en donor. P-værdi er beregnet med Wilcoxon Matched-Pair signed rank test



Figur 4. Principal komponent analyse af sammensætning af mikrobiotaet i cecum i mus som har fået kokosnøddolie emulgeret i mælkephospholipider (blå symboler, rapsolie emulgeret i mælkephospholipider, grønne symboler eller rapsolie emulgeret sojalecithin, røde symboler).

vist). Analyse af de kort-kædede fedtsyrer i cecum viste at emulsioner baseret på sojalecithin, førte til et mikrobiota som producerede mere iso-valeransyre og iso-butansyre, som produceres ved mikrobiel nedbrydning af protein (figur 5), der var ikke andre forskelle i kort-kædede fedtsyrer



Figur 5. Effekt af emulsioner baseret på mælkephospholipider (grøn, MPL) eller sojalecithin (rød, DL) på sammensætningen af kortkædede fedtsyrer i cecum. Værdier er angivet som procent af total kortkædede fedtsyrer

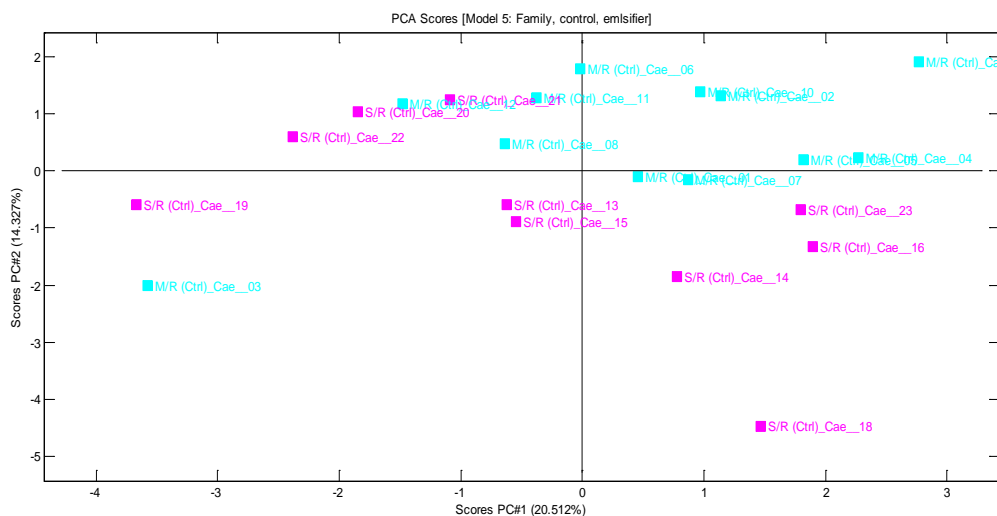
Konklusion WP2

Emulgering af fedt med mælkephospholipider i stedet for sojalecithin fører til etablering af et mikrobiota med anden sammensætning. Sammensætningen af kortkædede fedtsyrer i cecum indikerer at det fører til lavere mikrobiel nedbrydning af protein, hvilket ses som en positiv virkning.

Resultater WP 3

Analyse mikrobiotassammensætning i cecum 12 uger efter afsluttet behandling med emulsionerne viser at der stadig er forskel i mikrobiotaet mellem mus som har fået emulsioner baseret på mælkephospholipider eller sojalecithin i de mus som har fået kontrolkosten i de sidste 12 uger, men ikke i mus som har fået højfedtkosten.

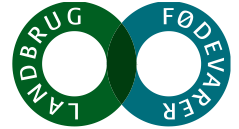
Der var ikke nogle forskelle i de metaboliske parametre mellem mus som har fået emulsioner med forskellige phospholipider eller olier. Der bliver derfor ikke vist data på dette i denne rapport.



Figur 6. *Principal komponent analyse af sammensætning af mikrobioataet i cecum i mus som har fået rapsolie emulgeret i mælkephospholipider (blå symboler) eller rapsolie emulgeret sojalecithin (røde symboler) i 14 dage efter inokulering, og derefter kontrolkosten i 12 uger.*

Konklusion WP 3.

De forskelle i tarmmikrobiotat som er forårsaget af emulgering af fedt i mælkephospholipider eller sojalecithin er vedvarende, om ikke individuelt gennemfører et markant skift i kosten som har en større effekt på mikrobiotat (HF kosten i dette forsøg). Forskellene i mikrobiotat forårsaget af de to phospholipidpræparationer har dog ikke nogen indvirkning på de metabole respons på en høj fedt kost.



11. Deviations

[Description and explanation of possible deviations compared to the initial expression of interest to DDRF. The deviations are divided into scientific, financial and deviations related to the timetable.

11.1 Der var ikke nogle afvigelser fra den oprindelige plan

11.2 Ikke nogle afvigelser fra budgettet

11.3 Grundet vanskeligheder at få nok kimfri mus til tiden, blev start f WP 2 og 3 forsinkede. Projektet kunne dog alligevel afsluttes til tiden.

12. The relevance of the results, including relevance for the dairy industry

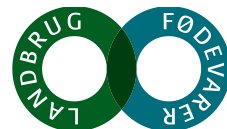
Vi har som de første vist at førdøjelsesprodukter fra fedt fra forskellige kilder (f eks mellemlange vs. langkædede fedtsyrer) har forskellig indvirkning på væksten af bakterierne i spædbørns tarmmikrobiota. Resultaterne viser også for første gang at valget af hvilken type af phospholipider som bruges til at emulgere fedt i som indtages under under kolonisering af tarmen, f eks i modermælkserstatninger kan påvirke sammensætningen af det nyetablerede mikrobiota.

Dette har skabt ny forståelse over kostfaktorer som former det mikrobiota som etablerer sig i det nyfødte barns tarm og kan derfor få betydning for anbefalinger i spædbørns ernæring, og i fremtidig udvikling af nye modermælkserstatninger. Resultaterne har betydning for mejeriindustrien, ved at de viser at sammensætningen af mælkefedt har helt specifikke effekter på tarmmikrobiota under dets etablering. Erstatte man mælkefedt, eller mælkephospholipider med vegetabiliske olier og andre phospholipid præparationer i denne vigtige udviklingsfase, kan det føre til forandringer i det etablerede mikrobiota som vi ikke kender konsekvenserne af. Men den øgede koncentration af produkter fra mikrobiel protei nedbrydning når wjalecithin blev brugt som emulgator, tyder på en negativ effekt for værtens sundhed.

Projektet har genereret en række spørgsmål, som åbner nye forskningsområder: Kan man udnytte den vækstfremmende effekt af MCF og sphingosin på *Bifidobacterium* til at fremme deres etablering i tarmmikrobiota under probiotika behandling? Hvad er mekanismen bag den vækstfremmende effekt af MCF og sphingosin på *Bifidobacterium* og den hæmmende effekt på vækst af *enterobacteriaceae*?

Hvorfor fremmer emulsioner lavede med sojalecithin etablering af et tarmmikrobiota som fører til øget protein nedbrydning.

I vores studier forårsagede overgang til en kost med meget høj fedtkoncentration en udgligning af de forskelle i tarmmikrobiota som indtag af emulsioner emulge-



rede i MPL eller sojalecithin havde forårsaget. Et vigtigt uopklaret spørgsmål er om overgangen til fast føde hos barnet vil have samme effekt?

13. Communication and knowledge sharing about the project

Papers in international journals:

Nejrup, R. G., M. I. Bahl, L. K. Vigsnaes, C. Heerup, T. R. Licht and L. I. Hellgren (2015). "Lipid hydrolysis products affect the composition of infant gut microbial communities *in vitro*." *Br J Nutr*: 1-12.

Mathiassen, J. H., R. G. Nejrup, H. Frøkiær, Å. Nilsson, L. Ohlsson and L. I. Hellgren (2015). "Emulsifying triglycerides with dairy phospholipids instead of soy lecithin modulates gut lipase activity." *European Journal of Lipid Science and Technology* **117**(10): 1522-1539.

Papers submitted to international journals:

Nejrup, R. G., M. I. Bahl, T. R. Licht and L. I. Hellgren "Type of fatty acid and phospholipid emulsifier for application in infant formulas affects the establishment of the gut microbiota in germ-free mice". Submitted to Scientific Reports

Papers in preparation:

Nejrup, R. G., M. I. Bahl, T. R. Licht and L. I. Hellgren "Type of phospholipid emulsifier for application in infant formula have long lasting effects on the establishment of gut microbiota in germ-free mice

Easily read papers:

Hellgren LI & Bennike RG (2014) "Bedre modernmælkserstatninger med mælkephospholipider?" Mælkeritidende

Student theses:

Heerup-Larsson AC, Specialkursus rapport (5 ECTS) "Effects on the composition of short-chained fatty acids by fatty acid induced changes in the infant fecal microbiota"

Oral presentations at scientific conferences, symposiums etc.:

Nejrup RG: Nordic Lipidforum Symposium, June 2013, Helsinki "Lipid hydrolysis products affect the composition of microbiota isolated from infant fecal samples after *in vitro* fermentation."

Nejrup RG: 11th Binnual Conference of the Society for studies of fatty acids and lipids, Stockholm, July 2014 "Lipid hydrolysis products characteristic for breast milk increase the relative abundance of Bifidobacterium and Lactobacillus in microbiota isolated from infant fecal samples after *in vitro* fermentation."

Oral presentations at meetings:

Other:

Hellgren LI, Milk Genomics Meeting 2014. "The use of milk phospholipids as emulsifiers in infant formula. "

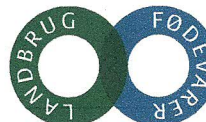
Hellgren LI, presentation for the Semper AB Scientific Advisory Board. Semper AB, Stockholm, 17.11 2014. "The use of milk phospholipids as emulsifiers in infant formula. "

Hellgren LI, "Use of milk phospholipids as emulgators to modulate the rate of intestinal triglyceride hydrolysis". Lipidforum seminar on dairy fat and health, Copenhagen 2014.

14. Contribution to master and Ph.D. education

PhD-project for Rikke Guldhammer Nejrup. Thesis (2015) . " Effects of emulsifying dietary fat with dairy phospholipids on establishment of the gut microbiota"

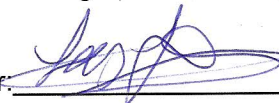
15. New contacts/projects



Takket vare dette project, fik vi kontakt med Semper AB, hvilket førte til udviklingen af "InfantBrain" projektet.

16. Signature and date

The project is formally finalised when the project manager and DDRF-representative (e.g. steering committee leader) have signed this final report.

Date: 19.5.2016 Signature, Project manager: 

Date: _____ Signature, DDRF-representative: _____

Referenser

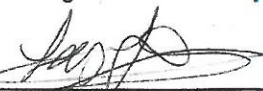
- 1 Nejrup, R. G. *et al.* Lipid hydrolysis products affect the composition of infant gut microbial communities in vitro. *British Journal of Nutrition* **114**, 63-74, doi:10.1017/s0007114515000811 (2015).
- 2 Mathiassen, J. H. *et al.* Emulsifying triglycerides with dairy phospholipids instead of soy lecithin modulates gut lipase activity. *European Journal of Lipid Science and Technology* **117**, 1522-1539, doi:10.1002/ejlt.201400505 (2015).



Takket vare dette project, fik vi kontakt med Semper AB, hvilket førte til udviklingen af "InfantBrain" projektet.

16. Signature and date

The project is formally finalised when the project manager and DDRF-representative (e.g. steering committee leader) have signed this final report.

Date: 19.5.2016 Signature, Project manager: 

Date: 30.5.16 Signature, DDRF-representative: 

Referenser

- 1 Nejrup, R. G. *et al.* Lipid hydrolysis products affect the composition of infant gut microbial communities in vitro. *British Journal of Nutrition* **114**, 63-74, doi:10.1017/s0007114515000811 (2015).
- 2 Mathiassen, J. H. *et al.* Emulsifying triglycerides with dairy phospholipids instead of soy lecithin modulates gut lipase activity. *European Journal of Lipid Science and Technology* **117**, 1522-1539, doi:10.1002/ejlt.201400505 (2015).